

総説

# 磁性細菌オルガネラ「マグネトソーム」の構造機能相関の解明

福森義宏, 田岡 東 金沢大学理工研究域自然システム学系, 同理工研究域バイオAFM先端研究センター

Magnetosomes synthesized in magnetotactic bacteria function as a cellular compass to navigate along the Earth's magnetic field. The magnetosome contains various types of specific associated proteins. Most of the magnetosome-associated proteins are encoded in gene clusters within a genetic "magnetosome island," which is essential for the synthesis of magnetosomes. Our atomic force microscopy studies indicated that the thickness of the organic layer wrapped around the magnetite crystal was ~7 nm, and magnetosome-associated protein MamA was localized at the surface of the organic layer. In this review we present recent progress on "Structure and Function of Magnetosomes" and propose the structural model of magnetosomes in the cell.

magnetosome / organelle / cytoskeleton / atomic force microscopy / geomagnetic field

## 1. はじめに

磁性細菌の特徴は、細胞内にリン脂質膜で覆われた単結晶マグネタイト ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) あるいは単結晶グレガイト ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) の磁気微粒子 (マグネトソーム) を持ち、それらを直鎖状に配置していることである。今日までに 6 種類の磁性細菌 (*Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1, *M. magneticum* AMB-1, *M. gryphiswaldense* MSR-1, *Magnetococcus marinus* MC-1, *Magnetovibrio Blakemorei* MV-1, *Desulfovibrio magneticus* RS-1) の純粋培養が成功し、これらの細菌のゲノムデータが解読されている。図 1 は、*M. magnetotacticum* MS-1 の電子顕微鏡写真であり、本細菌では平均 20 ~ 30 個のマグネトソームが細胞中央で 1 本の鎖を形成している。磁性細菌の形成するマグネタイト結晶やグレガイト結晶は、均質な結晶型を有し、単磁区構造を保持する大きさ (約 35 ~ 100 nm) に制御されており、効率的な磁石としての性質を備えている。その結果、磁性細菌は、マグネトソームを地磁気コンパスとして使用することにより、S 極あるいは N 極へと向かう“走磁性”という興味深い運動性を示す<sup>1)</sup>。

マグネトソームのマグネタイト結晶はリン脂質 2 重膜で覆われており、それらリン脂質の化学組成は細胞質膜のものと類似している。クライオ電子線トモグラフィ法により、マグネトソーム膜が細胞質膜の陥入により生じることが報告され、細胞質膜由来であることが明らかとなっている<sup>2)</sup>。また、マグネトソームには、細胞内の他の部位には存在しない数十種類の蛋白質が特異的に局在しており、マグネトソームの形成や

機能に関わっている。このように、磁性細菌は、細胞質で生合成した蛋白質を細胞内輸送し、細胞質膜を利用して、マグネトソームという高度に組織化された“原核細胞オルガネラ”を構築し、なおかつ細胞分裂時には、これを娘細胞に均等に分配している。私たちは、これまでマグネトソームの構造やマグネトソーム蛋白質の機能に関する研究を行ってきた。本稿では、これまでの研究成果を紹介する。なお、磁性細菌に関する研究全般については総説<sup>3)</sup>を参照いただきたい。

## 2. マグネトソームの構造とマグネトソーム蛋白質 MamA の機能

マグネトソームを磁石で精製し、SDS 処理後、可溶性成分を SDS 電気泳動すると多くの蛋白質バンドが観察される。2004 年、Grünberg らは、*M. gryphiswaldense* MSR-1 のマグネトソーム蛋白質を 2 次元電気泳動、N 末端分析と質量分析から同定し、これらの蛋白質の遺伝子が磁性細菌のゲノムの特定の領域“magnetosome gene island (MAI)” (図 2) に局在していることを報告した<sup>4)</sup>。MAI には、これまでに 4 つのオペロンが同定されている。そのうちのもっとも大きい *mamAB* オペロンには 18 種類の蛋白質がコードされており、類似した構造のオペロンがすべての磁性細菌で保存されていることから、マグネトソーム形成に必須なオペロンと考えられている。なかでも、MamA は MAI の塩基配列が決定されたすべての磁性細菌 (2 門 8 属 10 種) で完全に保存されており、発現量も多い蛋白質であることから重要な役割を担っていると予想されていた。

Structure and Function of Magnetotactic Bacterial Organelle “Magnetosome”  
Yoshihiro FUKUMORI and Azuma TAOKA  
School of Natural System, College of Science and Engineering, Kanazawa University

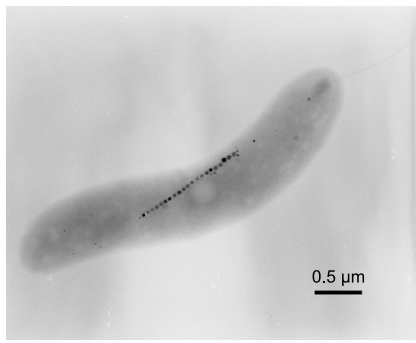


図 1 磁性細菌 *Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1 の透過型電子顕微鏡写真。細胞中央の直鎖状に配置された黒い粒子が細胞内磁気センサーとして働くマグネトソームである。

上記の研究に先立つ 1996 年、Okuda らは世界で初めてマグネトソーム蛋白質の遺伝子を決定し、MamA (当時は Mam22) のアミノ酸配列を遺伝子塩基配列から推定し、この蛋白質が TPR (tetratricopeptide motif) モチーフを持つ蛋白質であることを発表した<sup>5)</sup>。TPR モチーフとは、34 アミノ酸残基から成る蛋白質-蛋白質間相互作用を担う構造モチーフであり、そのコンセンサス配列は、4 番目 (W/L/F), 7 番目 (L/I/M), 8 番目 (G/A/S), 11 番目 (Y/L/F), 20 番目 (A/S/E), 24 番目 (F/Y/L), 27 番目 (A/S/L), and 32 番目 (P/K/E) であるが、34 アミノ酸配列全体としての保存性は高くない。しかしながら、TPR モチーフの 3 次元構造は高く保存されており、2つの逆向き平行の $\alpha$ ヘリックスで構成されている。2001 年、Okuda と Fukumori は、*mamA* 遺伝子を大腸菌で発現、MamA 蛋白質を精製した。MamA 溶液の NaCl 濃度を高めると凝集体を生成することを見だし、MamA は MamA 自身と相互作用し、複合体を形成する可能性があることを報告した<sup>6)</sup>。その後、2004 年、Komeili らは、*M. magneticum* AMB-1 の *mamA* 遺伝子欠損株を作製し、その表現型を検討したところ、欠損株では機能的なマグネトソームが形成されないことを明らかにし、MamA がマグネトソーム形成に必要な蛋白質であると報告した<sup>7)</sup>。しかしながら、MamA の具体的な機能は明らかにされなかった。

一方、2006 年、著者らは、MamA の局在を精製マグネトソーム標品と細胞超薄切片を用いて、免疫電子顕微鏡法により検討した。その結果、MamA はマグネトソーム膜の外側 (細胞質側) に局在することを明らかとした<sup>8)</sup>。また、2010 年、Yamamoto らは、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて精製マグネトソーム標品を観察することに成功した<sup>9)</sup>。AFM は走査プローブ顕微鏡の一種であり、水溶液中で試料表面を先端を尖らせた針で走査することにより表面形状を原子レベルの分解能で観察することができる。図 3a, b は、マグネトソームの AFM 像である。AFM による解析の結果、マグネトソームが厚さ約 7 nm の有機層で被われていることが明らかとなった。また、MamA 抗体で処理したマグネトソームを AFM で観察すると、マグネトソームに結合した抗体分子を表面の凹凸として確認することができた (図 3c, d)。MamA はマグネタイトを覆うリン脂質 2 重膜の外側で蛋白質の殻を形成し、マグネトソームを被う有機層を形成している事が示唆された。さらに、2011 年、Zeytuni らは、N 末端の 26 アミノ酸残基を欠損させた MamA  $\Delta$ 26 の立体構造を X 線結晶構造解析により決定し、欠損させたアミノ酸配列が MamA の超分子複合体を形成するために必須であることを報告し<sup>10)</sup>、マグネトソーム膜外にある MamA 蛋白質複合体モデルを提案した。

### 3. 磁性細菌の細胞骨格とマグネトソーム

マグネトソームの形成に必須の蛋白質群がコードされている *mamAB* オペロンには、アクチン・スーパーファミリーに保存されている 5 つのモチーフを持つアクチン様蛋白質 MamK の遺伝子が存在する (図 2)。著者らは、MamK の磁性細菌の細胞内局在を調べたところ、MamK は細胞両極にまで達する細胞長軸に沿った直線的な繊維状の構造を形成していることを確認した。さらに、大腸菌で発現、精製したモノマーの MamK 蛋白質は、ATP- $\gamma$ -S 存在下では直線的な束状の MamK 細胞骨格繊維を形成することを確認し、その織

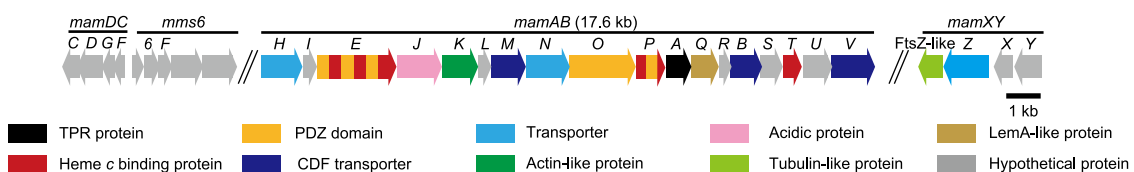


図 2 *Magnetospirillum* 属の磁性細菌のマグネトソーム遺伝子アイランド (MAI) の模式図。マグネトソーム蛋白質は 4 つのオペロン (*mamDC*, *mms6*, *mamAB*, および *mamXY*) にコードされている。MamA, MamK, MamJ は、*mamAB* オペロンの A, K, J と名付けられた遺伝子 *mamA*, *mamK*, *mamJ* にそれぞれコードされている。

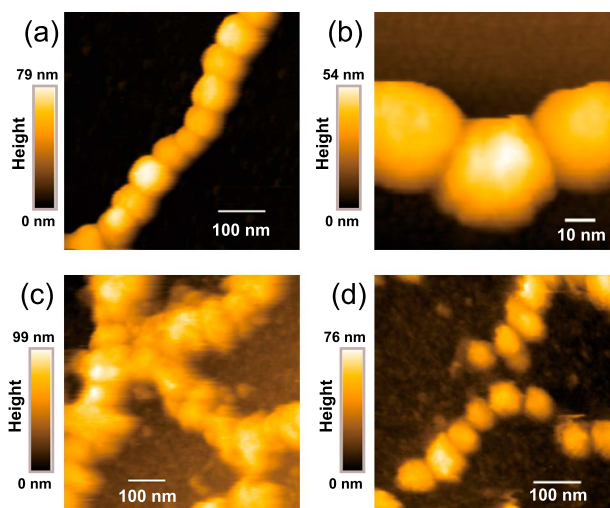


図3 マグネトソームの原子間力顕微鏡像 (a, b). 抗 MamA 抗体で処理したマグネトソームの原子間力顕微鏡像 (c). マグネトソーム表面が多数の抗体分子で被われている。免疫前血清で処理したマグネトソームの原子間力顕微鏡像 (d). マグネトソームの表面に抗体の結合は見られない。

維は、プロトフィラメントと見られる直径 6 nm ほどのらせん状の細いフィラメントが絡まり合って構成されていることを報告した<sup>11)</sup>。

細胞内における膜構造や細胞骨格などの構造を直接観察する手段として、クライオ電子線トモグラフィ法が注目されている。Komeili らは対数増殖期の磁性細菌 *M. magneticum* AMB-1 を急速凍結し、細胞内をクライオ電子線トモグラフィで可視化したところ、マグネトソーム付近に 200 ~ 250 nm の長さの繊維状の構造物が細胞質膜に沿って、細胞の端から端まで存在することを報告した<sup>2)</sup>。先述したように MamK 蛋白質はアクチン様蛋白質であることから、彼らは、*mamK* 遺伝子を欠損させ、その変異体の細胞内構造をクライオ電子顕微鏡により観察した。その結果、細胞内に繊維状

の構造物は見いだされず、マグネトソームは生成されているが、それらは直鎖状ではなく 2, 3 個のマグネトソームから成る小さなグループに分かれ、細胞内に分散していることを見いだした。このように、磁性細菌に特有なアクチン様 MamK 蛋白質が細胞骨格を形成し、それらがマグネトソームの細胞内直鎖状構造の足場となっていることが示唆される (図 4)。さらに、Scheffel らは、磁性細菌 *M. gryphiswaldense* の *mamK* 遺伝子に隣接する *mamJ* 遺伝子 (*M. magnetotacticum* MS-1 や *M. magneticum* AMB-1 にも存在する) の欠損株を作製し、野生株と欠損株のマグネトソームの構造を透過型電子顕微鏡により観察したところ、*mamJ* 欠損株では、マグネトソームは直鎖状ではなく、細胞の 1 か所に凝集していることを見いだした<sup>12)</sup>。また、鉄欠乏状態で培養した野生株と *mamJ* 欠損株の細胞内部構造をクライオ電子線トモグラフィ法で観察したところ、*mamJ* 欠損株では、空のマグネトソーム小胞が細胞内に分散していた。以上の実験結果から、Scheffel らは、MamJ 蛋白質が MamK 細胞骨格とマグネトソームを結び付ける接着蛋白質として機能しているというモデルを提案した<sup>12)</sup> (図 4)。

#### 4. マグネタイト結晶生成

マグネタイト結晶が細胞内でどのような機構で生合成されるかを明らかにするためには、少なくとも 3 つのステップの機構を明らかにしなければならない。

第 1 ステップは、磁性細菌がどのように大量の鉄イオンを細胞内に取り込むかである。磁性細菌の細胞内の鉄含量は、大腸菌などの一般的な細菌の鉄含量の約 100 倍以上である。従って、磁性細菌には、特別な鉄輸送システムの存在が示唆されるが、これまでの研究ではそのような鉄輸送システムは見いだされてい

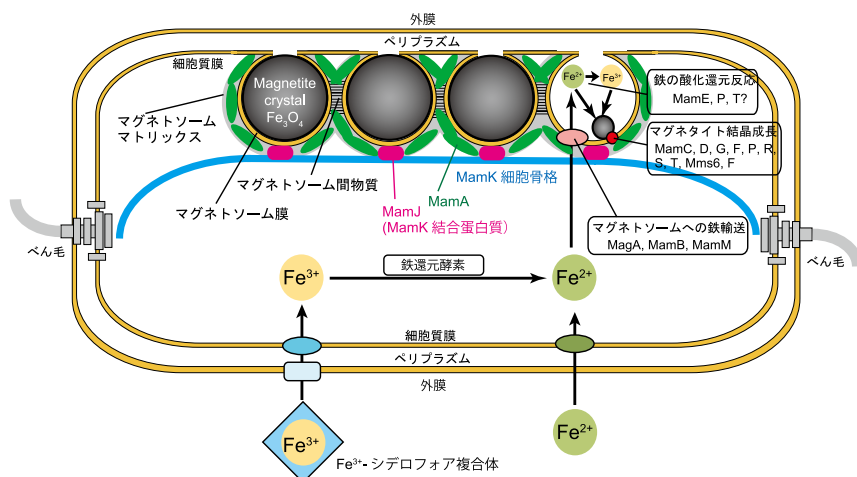


図4 マグネトソームの全体構造と構成蛋白質の機能のモデル

ない。著者らは、磁性細菌 *M. magnetotacticum* MS-1 の鉄輸送機構を検討し、2種類の TonB-dependent ferric-siderophore receptor が外膜に高濃度に発現するとともに細胞質膜には Fe<sup>2+</sup> 輸送蛋白質である FeoB が発現していることを報告した<sup>13)</sup>。これらの鉄輸送システムは多くの細菌の一般的な鉄輸送システムであることから、磁性細菌に特別な鉄輸送システムは無いようである。

第2ステップは、細胞内に取り込まれた Fe<sup>3+</sup> や Fe<sup>2+</sup> がどのようにマグネトソーム小胞内に輸送されるかである。一般的に細菌の細胞質は還元的な環境であり、細胞質において鉄イオンは二価の還元状態で存在すると考えられる。mamAB オペロンには MamB と MamM の2つの陽イオン輸送蛋白質ファミリー (CDF family) の蛋白質がコードされており、マグネトソーム小胞内への Fe<sup>2+</sup> 輸送への関与が示唆されている<sup>14)</sup>。また、Nakamura らは、MAI 以外のゲノムにコードされている MagA 蛋白質がマグネトソーム膜に局在し、鉄輸送体として機能していると報告している<sup>15)</sup>。

第3ステップは、マグネタイト単結晶の生成と成長である。Murat らは、mamAB オペロンに存在する mamP, mamS, mamT, mamR を欠損させるとマグネタイト結晶の大きさや型が変化し、特に mamS 欠損株では、多数の微小な顆粒がマグネトソーム膜付近で形成されることから、結晶の核形成や成長に関わっていると提案している<sup>16)</sup>。また、Tanaka らは、マグネタイトに強固に結合している蛋白質 Mms6 の欠損株では、マグネタイト結晶が小さくなり、結晶面の構造が変化したと報告している<sup>17)</sup>。その他、mamCD オペロンにコードされる蛋白質などの関与が示唆されており、結晶核の形成や結晶成長には、数種類の蛋白質が関わっている事は間違いないようである。

## 5. おわりに

図4は、これまでの研究成果に基づくマグネトソームの構造モデルである。マグネトソームの細胞内配置は細胞骨格繊維の足場により支えられている。私たちは、現在、細胞骨格繊維の構造、動態、重合特性、さらに細胞骨格繊維と相互作用するマグネトソーム蛋白質の機能解明など、細胞骨格がどのように磁気オルガネラの細胞内配置を決定し、磁気センサーとしてのマグネトソームの機能発現を支えているのかを明らかにすることに挑戦している。また、本稿では紹介できなかったが、グラム陰性細菌である *M. magneticum* AMB-1 の細胞表層を AFM で観察することに成功し、新しい外膜モデルを提案した<sup>18)</sup>。

西暦 1600 年、イギリスの医師ウィリアム・ギルバートは、著書「磁石論」のなかで、「地球は大きな磁石である」と述べている。地球上に生命が誕生したのは、約 38 億年前であり、それ以来生物は大きな磁石の上で進化してきた。事実、昆虫、渡り鳥、ウミガメ、サケなどの高等生物が地磁気を感知し、その活動に利用しており、一部の生物は磁気を帯びた微粒子をコンパス代わりに使っている可能性がある<sup>19)</sup>。磁性細菌の磁気感知運動マシナリーの構造機能相関を明らかにすることができれば、生物における磁気感知機構の一端が分子レベルで明らかになる事が期待される。

## 文献

- 1) Blakemore, R. *et al.* (1980) *Nature* **286**, 384-385.
- 2) Komeili, A. *et al.* (2006) *Science* **311**, 242-245.
- 3) Komeili, A. (2012) *FEMS Microbiol. Rev.* **36**, 232-255.
- 4) Grünberg, K. *et al.* (2004) *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 1040-1050.
- 5) Okuda, Y. *et al.* (1996) *Gene* **171**, 99-102.
- 6) Okuda, Y. *et al.* (2001) *FEBS Lett.* **491**, 169-173.
- 7) Komeili, A. *et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 3839-3844.
- 8) Taoka, A. *et al.* (2006) *J. Bacteriol.* **188**, 3805-3812.
- 9) Yamamoto, D. *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 9382-9387.
- 10) Zeytuni, N. *et al.* (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, E480-E487.
- 11) Taoka, A. *et al.* (2007) *J. Bacteriol.* **189**, 8737-8740.
- 12) Scheffel, A. *et al.* (2006) *Nature* **440**, 110-114.
- 13) Taoka, A. *et al.* (2009) *Cur. Microbiol.* **58**, 177-181.
- 14) Uebe, R. *et al.* (2011) *Mol. Microbiol.* **82**, 818-835.
- 15) Nakamura, C. *et al.* (1995) *J. Biochem.* **118**, 23-27.
- 16) Murat, D. *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 5593-5598.
- 17) Tanaka, M. *et al.* (2011) *J. Biol. Chem.* **286**, 6386-6392.
- 18) Yamashita, H. *et al.* (2012) *J. Mol. Biol.* **422**, 300-309.
- 19) Castelvetti, D. (2012) *Sci. Am.* **306**, 48-53.



福森義宏

### 福森義宏 (ふくもり よしひろ)

金沢大学理工研究域自然システム学系教授。1980年大阪大学大学院理学研究科生理学専攻修了。理学博士。大阪大学理学部、東京工業大学理学部、同生命理工学部を経て、97年金沢大学理学部教授。2008年より現職。

研究内容: 磁性細菌オルガネラの構造機能相関の解明

連絡先: 〒920-1192 石川県金沢市角間町

E-mail: fukumori@staff.kanazawa-u.ac.jp

URL: <http://pronet.s.kanazawa-u.ac.jp>



田岡 東

### 田岡 東 (たおか あずま)

金沢大学理工研究域自然システム学系助教。2004年金沢大学自然科学研究科生命科学専攻修了。博士(理学)。金沢大学理学部、金沢大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリーを経て、08年より現職。

研究内容: 磁性細菌の原核細胞オルガネラ形成機構の解明

連絡先: 同上

E-mail: aztaoka@staff.kanazawa-u.ac.jp